

? S PN=JP 58128318
S18 1 PN=JP 58128318
? T S18/7

18/7/1
DIALOG(R) File 351:Derwent WPI
(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

003734127
WPI Acc No: 1983-730325/198332

Compsn. of liposomes and sodium cromoglycate - useful as prolonged action antiallergic agent on inhalation admin.

Patent Assignee: FISONS PLC (FISO)

Inventor: AHMED M; AUGSTEIN J

Number of Countries: 013 Number of Patents: 007

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
EP 84898	A	19830803	EP 83200047	A	19830113	198332 B
→JP 58128318	A	19830730				198336
EP 84898	B	19860903				198636
DE 3365744	G	19861009				198642
US 4804678	A	19890214	US 87105508	A	19871005	198909
→US 4917897	A	19900417	US 89308196	A	19890208	199020
JP 91080773	B	19911226	JP 837487	A	19830121	199205

Priority Applications (No Type Date): GB 8220762 A 19820717; GB 821883 A 19820122; GB 821833 A 19820122

Cited Patents: No-SR.Pub; 2.Jnl.Ref; US 4168308

Patent Details:

Patent No Kind Lan Pg Main IPC Filing Notes

EP 84898 A E 20

Designated States (Regional): AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

EP 84898 B E

Designated States (Regional): AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

Abstract (Basic): EP 84898 A

(A) Pharm. compsn. comprises liposomes and sodium cromoglycate (I). (B) Aq. suspn. comprises (I) partitioned between a free aq. phase and a liposome phase. (C) Aq. suspn. comprises a total concn. of 0.1-20 mg/ml. (I) partitioned between an aq. phase and a liposome phase comprising di(tetradecanoyl)-, di(hexadecanoyl)- or di(octadecanoyl)-phosphatidylcholine dispersed in the aq.phase at 1-30 mg/ml. There is 2-35 wt.% of (I) associated with the liposomes.

The liposomes contg. (I) are administered directly into the site of an allergic condition, e.g. the lung, when an increased level of retention of (I) at the site is achieved and the duration of action is prolonged. Conditions such as asthma, hay fever and vernal kerato conjunctivitis, are treated in this way. Dose is 0.1-20 mg. (I) liposomes for inhalation treatment of asthma.

0/0

Derwent Class: B05; C03; P34

International Patent Class (Additional): A61K-009/50; A61K-031/35;
A61R-037/22; C07D-311/24

⑯ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—128318

⑤ Int. Cl.³
A 61 K 31/35
// C 07 D 311/24

識別記号
ABF

府内整理番号
6408—4C
7169—4C

⑬ 公開 昭和58年(1983)7月30日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 7 頁)

⑭ 薬学的組成物

ーマンハウフアーム (番地なし)

⑮ 特 願 昭58—7487

⑯ 発明者 マクブル・アーメド

⑰ 出 願 昭58(1983)1月21日

イギリス国レスター・シャー州ロ
クバロウ・ベースビードライブ
71

優先権主張 ⑲ 1982年1月22日 ⑳ イギリス
(GB) ㉑ 8201883

㉒ 1982年7月17日 ㉓ イギリス
(GB) ㉔ 8220762

㉕ 出願人 フアイソンズ・ピーエルシー
イギリス国イプスウィッチャ・ブ
リンセスストリート・ファイソ
ンハウス (番地なし)

㉖ 発明者 ジョアキム・オーグスタン
イギリス国レスター・シャー州ロ
クバロウ・ウッドハウスイーヴ
ズ・チャーリイロード・アルダ

㉗ 代理 人 弁理士 山下白

明細書

1. 発明の名称 薬学的組成物

4項記載の組成物。

2. 特許請求の範囲

6) リボソームがコレステロール、コレステリ
ルステアレートおよび負または正に荷電した
成分から選ばれた1種またはそれ以上の付加
的成分を含有する前記特許請求の範囲第4項
または5項に記載の組成物。

1) リボソームおよびナトリウムクロモグリケ
ートからなる薬学的組成物。

7) ナトリウムクロモグリケート対脂質の重量
比が0.01～100である前記特許請求の範囲第
1～6項のいずれか一つに記載の組成物。

2) 遊離の水相およびリボソーム相の間に分配
されたナトリウムクロモグリケートからなる
水性懸濁液の形である前記特許請求の範囲第
1項記載の組成物。

8) ナトリウムクロモグリケートの総濃度が0.01
～50%である前記特許請求の範囲第2～
7項のいずれか一つに記載の水性懸濁液。

3) リボソームが100nm～10μmの直徑を有す
る前記特許請求の範囲第1または第2項記載
の組成物。

9) リボソームと会合したナトリウムクロモグ
リケートの百分率が2～35%w/wである前記
特許請求の範囲第1～8項のいずれか一つに記載の組成物。

4) リボソームが1種またはそれ以上の天然ま
たは合成レシチンからなる前記特許請求の範
囲第1～3項のいずれか一つに記載の組成物。

10) 脂質の薄膜をナトリウムクロモグリケート
の水溶液中に分散させておさむなる、前記

5) レシチンまたはレシチン混合物が35～45℃
の相転移温度を有する前記特許請求の範囲第

特許請求の範囲第1または2項に記載の薬学的組成物。

11) レシチン類たるジ(テトラデカノイル)ホスファチジルコリン、ジ(ヘキサデカノイル)ホスファチジルコリンまたはジ(オクタデカノイル)ホスファチジルコリンの1種またはそれ以上からなるリポソーム相と水相との間に分配された総濃度0.1~20mg/mlのナトリウムクロモグリケートからなり、水相中に分散されたレシチン濃度が1~30mg/mlでありそしてリポソームと会合したナトリウムクロモグリケートの百分率が2~35%w/wである水性懸濁液である前記特許請求の範囲第1項記載の組成物。

3. 発明の詳細な説明

本発明は薬学的組成物に関するものでありそして特に吸入用物質の製剤に関する。

- 3 -

トリウムクロモグリケートを含有する選択された水性媒体に分散せしめる。しかしながら通常の実施とは逆に、かくして調製されたリポソームを超音波処理しないことが好ましい。何故ならばこのような処理はリポソームの寸法を小さくするからである。本発明方法により調製されたリポソームは通常ある範囲の寸法をしていよう。本発明のリポソームは直径100nm~10μmを有するのが好ましく、より好ましくは直径1μm~7μmを有する。例えば、5000nmまでの直径を有するリポソームは容易に食作用されうることが知られている。リポソームを分別して100nm以下好ましくは1μm以下の直径を有するものを実質上すべて除去するのが好ましい。分別は好都合には例えば交叉結合デキストランまたはアガロースを使用してカラムゲルクロマトグラフィーにより遂行でき、ゲルの寸法は所望され

- 5 -

ナトリウムクロモグリケートはアレルギー症状例えは喘息、枯草熱および春季角膜結膜炎の治療に多年知られている。しかしながらこれはその作用持続が比較的短いという欠点がある。

本発明によれば、リポソームおよびナトリウムクロモグリケートからなる薬学的組成物が提供される。

本発明のリポソームを直接アレルギー状態の場所例えは肺に投与することにより、その場所でのナトリウムクロモグリケート保有レベルを増大させることができあり、それにより作用期間の増大が達成される。

本発明によるリポソーム調製の最初の段階は好都合には当業上記載された操作に従う。すなわち脂質出発物質を溶媒例えはエタノールまたはクロロホルム中に溶解させ、これを次に蒸発させる。次に得られた脂質層を適当な濃度のナ

- 4 -

るリポソーム寸法に従つて選択される。あるいはまた、リポソームは超遠心分離を用いるかまたは例えはボリカーボネート膜済過を用いる透析により分別されうる。

広い種類の脂質物質が天然レシチン例えは卵および大豆に由来するもの、および合成レシチンを包含するリポソームを形成させるのに使用されうる。非免疫原性でありそして生物体により分解されうる脂質が好ましい。脂質の性質、例えはその相転移温度は標的である器官中へのリポソームの保有ならびに吸収に対して顕著な影響を及ぼしうるので、その理由から充分に規定された合成レシチンの方が天然レシチンより好ましい。使用されうる合成レシチンをそれらの各相転移温度と共にあげれば、ジ(テトラデカノイル)ホスファチジルコリン(以下「DTPC」と略記する)(23°C)、ジ(ヘキサデカノイ

- 6 -

ル) ホスファチジルコリン(以下「DHPC」と略記する)(41℃)およびジ(オクタデカノイル)ホスファチジルコリン(以下「DOPC」と略記する)(55℃)である。ジ(ヘキサデカノイル)ホスファチジルコリンを単独のレシチンとしてかまたは場合によりジ(オクタデカノイル)またはジ(テトラデカノイル)化合物の少量と一緒に主要量のレシチンとして使用するのが好ましい。使用されうる他の合成レシチンは不飽和合成レシチン、例えばジ(オレイル)ホスファチジルコリンおよびジ(リノレイル)ホスファチジルコリンである。合成レシチン、または脂質混合物が35~45℃の範囲の相転移温度を有するのが好ましい。通常構脂質である主要なリボソーム形成性脂質または脂質類に加え、リボソーム膜の構造を修正してそれを主要なリボソーム形成性脂質または脂質類の性質に応じてより

- 7 -

合のナトリウムクロモグリケートを用いることが好ましい。

リボソーム形成期間中の水相におけるナトリウムクロモグリケート濃度は好ましくは0.01~5.0mg/mlであり、そしてより好ましくは0.1~2.0mg/ml、例えば1.0または2.0mg/mlである。

水相が周期律表の第IIa、Ib、IIbおよびIVb族および遷移金属の金属イオン、特にPb⁺⁺、Ca⁺⁺、Mg⁺⁺、Fe⁺⁺、Fe⁺⁺⁺およびZn⁺⁺イオンを2.0ppm以下の量で含有することが好ましい。

水相は塩化ナトリウムを用いて等張性となされうる。更に加えて、水相は塩化カリウムをも含有しうる。

水相は適当な酸または塩基の添加により、または適当な緩衝剤例えばトリス(ヒドロキシメチル)メタナミン(トリス)の添加によりpH 6~8、好ましくはpH 6.5~7.5に調整されうる。

- 9 -

流体状またはより剛性となすために他の脂質例えばコレステロールまたはコレステリルステアレートが(例えば総脂質の5~40%w/wの割合で)包含されうる。場合により包含されてもよい第3成分は陰電荷を与える物質例えばホスファチド酸、磷酸ジセチルまたは牛脳ガングリオシドであるか、または陽電荷を与える物質例えばステアリルアミンアセテートまたはセチルビリジニウムクロリドである。荷電した成分は総脂質の1~20%w/wの割合で包含されうる。

使用される脂質および状況の如何に応じてナトリウムクロモグリケート対脂質の広範囲の割合が形成の間に使用されうる。しかしながら、一般にナトリウムクロモグリケート1重量部対脂質0.01~1.00好ましくは0.05~2.0重量部、最も好ましくは0.1~1.0重量部の範囲が適当であることが判明した。使用可能なかぎり高い割

- 8 -

水相中に分散される脂質の濃度は好ましくは0.1~15.0mg/ml、より好ましくは0.5~5.0mg/mlそして最も好ましくは1~3.0mg/mlである。

リボソーム製剤が37℃で約12~48時間好ましくは12~24時間の半減期(流出速度)を有することが好ましい。半減期は慣用の方法、例えば希釈法により計測されうる。製剤の半減期はそのリボソームをつくるのに使用される種々の脂質の割合を変えることにより変動されうる。

本発明の組成物はナトリウムクロモグリケート-リボソームの噴霧化された水性懸濁液を肺に注入することにより喘息の治療に使用されうる。本発明の組成物はアレルギー性の眼の状態、例えば春季角膜結膜炎、枯草熱の眼の症候および/または周縁浸潤の治療において点眼剤として使用されうる。

- 10 -

この組成物はまた胃腸管疾患例えば潰瘍性大腸炎および食品アレルギーの治療に食道投与により使用されうる。本発明の組成物を混入する浣腸は特にアレルギー起原の肠疾患の治療に使用されうる。本発明の組成物はまた例えば鼻スプレーとして鼻に投与することにより枯草熱の治療に、そして皮膚状態、例えば哺乳類特に人間の慢性皮膚病の治療にも使用されうる。治療されうる皮膚病には皮膚乳房細胞および/または抗体抗原反応を含む皮膚病、および湿疹、薬物発疹、乾燥、皮膚炎、ヘルペス状天疱瘡および慢性皮膚潰瘍が包含される。

前記のように調製された組成物はナトリウムクロモグリケートが遊離の水相およびリボソーム相の間に分配されたリボソームの水性懸濁液である。

これら水性製剤は、水相がナトリウムクロモ

- 11 -

常法例えば遠心分離により測定されうる。

あるいはまた、水相とリボソーム相との間に分配されたナトリウムクロモグリケートの水性懸濁液は例えば遠心分離、限外濾過または透析により濃縮されてリボソームゲルを生じうる。このゲルはいくつかの方法で使用されうる。例えばこれは軟膏基剤中に混入され、場合によりナトリウムクロモグリケートを含有してもよい水または等張性の緩衝食塩溶液中に再懸濁されうる。かかる製剤はリボソームゲル、および適当な付形剤から使用直前に調製されうる。

与えられる服用量は使用される個々の組成、処置される症状およびその重複さに応じて変動しよう。これら状態の治療においては有効量のナトリウムクロモグリケートリボソームを使用することが好ましい（例えば喘息の吸入処置には0.1~20mg）。

- 13 -

グリケートの最初の「下巻り」量を付与できそしてリボソーム相がナトリウムクロモグリケートの維持量を付与しうるという点で有用で且つ予想されざる性質を有することを見出した。このことはナトリウムクロモグリケートの作用期間を増大させる効果を有する。

それゆえに本発明によれば、遊離の水相およびリボソーム相の間に分配されたナトリウムクロモグリケートからなる水性懸濁液が提供される。

水性懸濁液中のナトリウムクロモグリケートの総濃度が0.01~50mg/ml、好ましくは0.1~20mg/mlであることが好ましい。

リボソームと会合されたナトリウムクロモグリケートの百分率が2~35%w/w、例えば4~20%であることが好ましい。リボソームと会合されたナトリウムクロモグリケートの百分率は

- 12 -

以下の例により本発明を説明するが、本発明はそれらに限定されるものではない。

リボソーム含有ナトリウムクロモグリケートの一観的調製

所望量（例えば20mg）の適当な磷脂質または磷脂質混合物（例えば卵レシチン、DTPC、DHPC または DOPC）を、所望ならば任意の他の脂質可溶性成分（例えばコレステロール、コレステリルステアレート）と共に丸底フラスコ中に秤量して入れる。脂質成分を少量（約5ml）の適当な溶媒（例えばエタノール）中に溶解させ、そして回転膜蒸発器を用いて減圧下に蒸発乾固させてフラスコの内部表面上に磷脂質の薄膜を得る。

適当な濃度（例えば1mg/1ml）のナトリウムクロモグリケート水溶液は水性媒体（例えば0.9%w/v 食塩溶液、緩衝溶液等）20ml中に秤量

- 14 -

した前のナトリウムクロモグリケートを溶解させそして所望の場合は得られた溶液のpHを調節することにより調製される。ナトリウムクロモグリケートの水溶液を脂質(類)の相転移温度より20℃上まで加温し、フラスコ中の脂質膜に加え、そしてこのフラスコをすべての脂質膜が分散するまで懸やかに振盪する。得られる懸濁液は200nm~10μmの寸法をしたリボソームを含有する。

この懸濁液を37℃で48時間平衡化させた。

これら懸濁液は遊離の水相とリボソームとの間に分配したナトリウムクロモグリケートを含有する。

24時間後にはこの懸濁液は大抵の場合分離してきてコロイド状の白色沈殿を形成し、これは振盪すると容易に再分散される。

下記に例示されるナトリウムクロモグリケートリボソーム組成物は前記した一般操作を用いて調製された。

1. 卵レシチン	20mg
ナトリウムクロモグリケート	200mg
脱ミネラル水	20ml
2. 卵レシチン	20mg
ナトリウムクロモグリケート	20mg
脱ミネラル水	20ml
3. DTPC	20mg
ナトリウムクロモグリケート	2mg
0.9%w/v食塩溶液	20ml
4. DTPC	20mg
ナトリウムクロモグリケート	20mg
0.9%w/v食塩溶液	20ml
5. DTPC	20mg
ナトリウムクロモグリケート	200mg
0.9%w/v食塩溶液	20ml
6. DTPC	200mg

- 15 -

- 16 -

ナトリウムクロモグリケート	200mg
0.9%w/v食塩溶液	20ml
7. DTPC	400mg
ナトリウムクロモグリケート	200mg
0.9%w/v食塩溶液	20ml
8. DHPC	200mg
ナトリウムクロモグリケート	200mg
0.9%w/v食塩溶液	20ml
9. DOPC	200mg
ナトリウムクロモグリケート	200mg
脱ミネラル水	20ml
10. DTPC	133mg
コレステリルステアレート	67mg
ナトリウムクロモグリケート	200mg
脱ミネラル水	20ml
11. DHPC	133mg
コレステリルステアレート	67mg
ナトリウムクロモグリケート	200mg
脱ミネラル水	20ml

12. DHPC	133mg
コレステロール	67mg
ナトリウムクロモグリケート	200mg
脱ミネラル水	20ml
13. DHPC	20mg
ナトリウムクロモグリケート	200mg
0.9%w/v食塩溶液	20ml
14. DHPC	75mg
ナトリウムクロモグリケート	102.5mg
水中の塩化カリウム(150mM) およびpH7.4のトリス緩衝液 (10mM)	1.0ml
15. DHPC	70mg
DTPC	30mg
ナトリウムクロモグリケート	100mg
0.9%w/v食塩溶液	10ml
16. DHPC	180mg
ナトリウムクロモグリケート	200mg
セチルピリジニウムクロライド	20mg
0.9%w/v食塩溶液	200ml

- 17 -

- 18 -

リポソームと会合したナトリウムクロモグリケートの測定

平衡化されたナトリウムクロモグリケートリポソーム分散物を 70,000 G で 1 時間遠心分離する。上澄み液の 1 部分を紫外線分光光度計で 326 nm において分析して遊離のナトリウムクロモグリケート濃度を測定する。

リポソームと会合したナトリウムクロモグリケートの % を下記関係式から測定する。

リポソームと会合したナトリウムクロモグリケート（クロモグリケート）の % =

$$\frac{[\text{総クロモグリケート}] - [\text{上澄み液中のクロモグリケート}]}{[\text{総クロモグリケート}]} \times 100$$

下記会合 % が測定された。

例 5 4.5 % w/w

例 13 8.23 % w/w

例 14 14.00 % w/w

- 19 -

「Biochemical Pharmacology」第 29 卷第 2361~2365 頁 (1980 年) に記載された希釈法を用いても測定されうる。

流動および透過係数の測定

〔膜の調製〕

雌雄いずれかの 10~12 週令の白色無毛マウスを頸部をひねつて殺しそして背面の皮膚を最小限度の処理で取り出した。個々の球として視認しうる皮下脂肪を除去した。この皮膚試料を使用前に何らか損傷の徵候がないか検査した。拡散セルについて皮膚試料 1 個を使用しそして表面側を上にして拡散セルの上方部分の開口部上に貼りそして「O」リングで固定した。過剰の皮膚はセルを組み立てる前に削り落とした。

〔拡散セルの集成〕

膜を固定した後上方部分の「O」リングにシリコーングリース少量を適用した。次に上方部

リポソームからのナトリウムクロモグリケート放出速度およびリポソーム半減期

リポソームからのナトリウムクロモグリケート放出速度はナトリウムクロモグリケートリポソームを前記のように 70,000 G で遠心分離し、上澄み液を捨てそして pH 7.4 に緩衝された等張食塩溶液中に再懸濁させることにより測定される。37°C で攪拌した再懸濁したリポソームの 1 部分を間隔をおいて遠心分離し、そして上澄み液中のナトリウムクロモグリケート濃度を紫外線分光光度計により測定した。リポソームの放出定数 k は $k = [\text{放出されたクロモグリケート}] / \text{対時間をプロットすることにより測定される。}$

リポソームの半減期 $t_{1/2}$ は既知関係式 $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$ により与えられる。

リポソーム半減期はまた M.Ahmed 氏他の

- 20 -

分を下方の房内に正しく位置するまでしっかりと押した。この房を次に予め 37°C に平衡化された食塩水で充満した。各セルの容量は皮膚膜が水準に留まるように各個に調整された。充填容量は横腕に印した。

〔実験操作〕

8 個の拡散セル 1 組をサーモスタット制御された 37°C の水浴セット中に保持された担体プレート上に据えそして平衡化された。各セルを水中の磁気攪拌器モーター上に位置させそして水レベルを皮膚表面とはほぼ同じに調整した。このことは皮膚表面の温度が 30°C のままであることを保証した。

研究される予定のビヒクルをミクロビペットから加えることにより適用した。次に小さなガラス棒を用いて製剤を露出された皮膚表面上に均一に分配した。適用された各量の重量はミク

- 22 -

ロビペットまたは注射器により加えられた少くとも 10 個の試料を正確に秤量することにより測定された。

ビヒクルの適用に統いて磁気攪拌器のスイッチを入れそして適当な時間間隔をおいて受け容器流体の試料 1.0 mlずつを横腕からとり出しそして直ちに予め 37°C に平衡化された新たな食塩水で置換した。次にこれらの試料を高性能液体クロマトグラフィー (HPLC) により薬物について分析するまで冷蔵した。

研究される各製剤について少くとも 3 回反復して拡散セルが使用された。

[データ処理]

薬物が皮膚を移送される間に受動的拡散のみが起ると仮定すると、透過速度はフィックの法則 (Fick's law) により与えられる。

$$J = P \Delta C$$

- 23 -

ここで J は流量、すなわち単位時間当たり単位面積当たり拡散する薬物の量、P は透過係数、 ΔC は角質層の濃度差である。

特許出願人 フアイソンズ・ピーエルシー

代理人 弁理士 山 下

